



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA  
CENTRO DE TECNOLOGIA – CT  
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA

RAPHAEL VINICIUS SILVEIRA REMÍGIO

**ESTUDO CINÉTICO DE TRÊS CEPAS DE LEVEDURA EM MOSTO  
CERVEJEIRO**

JOÃO PESSOA – PB

2017

RAPHAEL VINICIUS SILVEIRA REMIGIO

**ESTUDO CINÉTICO DE TRÊS CEPAS DE LEVEDURA EM MOSTO  
CERVEJEIRO**

Trabalho de conclusão de curso  
apresentado ao Departamento de  
Engenharia Química, do Centro de  
Tecnologia da Universidade Federal  
da Paraíba, como parte dos requisitos  
obrigatórios para obtenção do título  
de bacharel em Engenharia Química.

**Orientador: Prof. Dr. Carlos Alberto Bispo de Sousa**

JOÃO PESSOA – PB

2017

R387e Remigio, Raphael Vinicius Silveira

Estudo cinético de três cepas de levedura em mosto cervejeiro / Raphael Vinicius Silveira Remigio. – João Pessoa, 2017.

53f. il.:

Orientador: Prof. Dr. Carlos Alberto Bispo de Sousa.

Monografia (Curso de Graduação em Engenharia Química) Campus I - UFPB / Universidade Federal da Paraíba.

1. Cerveja 2. Levedura 3. Produção do mosto cervejeiro 4. Cinética de crescimento 5. Caracterização do mosto cervejeiro I. Título.

BS/CT/UFPB

CDU: 2.ed. 54(043.2)

RAPHAEL VINICIUS SILVEIRA REMIGIO

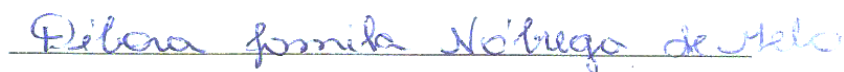
**TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO**

**Aprovado em: 28/11/ 2017**

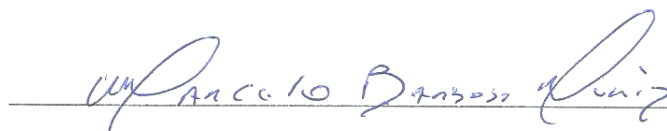
**BANCA EXAMINADORA**



Prof(a). Dr(a). Carlos Alberto Bispo



Ms. Debora Jamila de Nobrega



Prof(a). Dr(a). Marcelo Barbosa Muniz

## **AGRADECIMENTOS**

Acima de tudo, agradeço a Deus por ter me concedido força, foco e fé para seguir em frente nessa jornada tão desafiadora, mas ao mesmo tempo tão gratificante. Foram seis longos anos de aprendizados, dificuldades, obstáculos dos mais diferentes modelos, mas que me auxiliaram a ser o ser humano que sou hoje em dia, forte, dedicado, prático, sempre tentando extrair coisas positivas em todas as situações.

Gostaria de agradecer imensamente aos professores envolvidos, que me auxiliaram durante toda esta jornada. Compartilhando ideias e conhecimentos. Agradecer ao professor e orientador Carlos Bispo, que aceitou o desafio de me ajudar a completar todas as análises feitas em laboratório em um curto período de tempo. Também gostaria de agradecer imensamente a minha supervisora, Débora Jamila, que me auxiliou durante todo este tempo de projeto, me ensinando o passo a passo de cada experimento, compartilhando seu conhecimento comigo e por ter depositado sua confiança em mim.

Aos amigos que fiz durante esse período de universidade, principalmente com os quais tive um maior contato durante todo o tempo de curso. Pelas risadas compartilhadas, experiências vividas e sobretudo pelos laços de amizade que vou levar comigo para a vida inteira.

Quero também agradecer aos amigos de laboratório, que me ajudaram nos experimentos, sempre dispostos a me auxiliar nas análises e compartilhando conhecimento.

Agradeço infinitamente a minha família, que sempre me apoiou nos momentos mais alegres e tristes da minha vida, sempre me deu conselhos para seguir em frente e nunca desistir.

*“Não importa quão estreito o  
portal, quão carregada de  
punições a lista, sou o mestre do  
meu destino: sou o capitão da  
minha alma”.*

*(William Ernest Henley)*

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Malte de cevada.....	21
Figura 2 – Flor de Lúpulo.....	22
Figura 3 – Moléculas do Ácido $\alpha$ e do Iso- $\alpha$ -ácido formado após isomerização.....	24
Figura 4 – Levedura <i>S. cerevisiae</i> e <i>S. cesuvarum</i> respectivamente.....	25
Figura 5 – Fluxograma das operações unitárias básicas para o processo de produção de cerveja.....	29
Figura 6 – Moinho utilizado na moagem do malte.....	37
Figura 7 – Etapa da brassagem do mosto fabricado em laboratório.....	38
Figura 8 – Melhor curva de calibração para o Mosto I.....	43
Figura 9 – Melhor curva de calibração para o Mosto II.....	44
Figura 10 – Melhor curva de calibração para o Mosto III.....	44
Figura 11 – Curva da cinética de crescimento para o Mosto I, II e III.....	45
Figura 12 – Gráfico do Tempo vs. Concentração de açúcar no Mosto I.....	47
Figura 13 – Gráfico do Tempo vs. Concentração de açúcar no Mosto II.....	47
Figura 14 – Gráfico do Tempo vs. Concentração de açúcar no Mosto III.....	48

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Parâmetros da água de boa qualidade para produção de cerveja.....	19
Tabela 2 – Comparação das características do grão de cevada com o grão de malte.....	20
Tabela 3 – Composição do lúpulo usado na indústria cervejeira.....	23
Tabela 4 – Composições médias dos principais componentes sólidos do mosto.....	30
Tabela 5 – Valores do tempo de geração de cada mosto.....	46
Tabela 6 – Valores de pH inicial e final obtidos.....	49



## NOMENCLATURA

$Y_{x/s}$ : Fator de Conversão de Substrato em Células.

$Y_{p/s}$ : Fator de Conversão de Substrato em Produto.

$Y_{x/p}$ : Fator de Conversão de Produto em Células.

$Y'_{x/s}$ : F. C. Verdadeiro de Substrato em Células.

$r_x$ ,  $r_s$  e  $r_p$ : Velocidades Instantâneas de Consumo de Substrato; Crescimento Celular e Formação de Produto.

$\mu_x$ ;  $\mu_s$ ;  $\mu_p$ : Velocidades Específicas de Crescimento Celular; Consumo de Substrato e Formação de Produto.

$Q_p$ : Produtividade Volumétrica do Produto.

$m$ : Consumo Específico para a Manutenção.

$T_g$ : Tempo de Geração do Microrganismo.

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b>	<b>14</b>
<b>2. OBJETIVO</b>	<b>15</b>
2.1. Objetivo principal	15
2.2. Objetivos específicos	15
<b>3. CONTEXTO TEÓRICO</b>	<b>16</b>
3.1. Definição de cerveja	16
3.2. História da cerveja	16
3.3. Cerveja no Brasil	17
3.4. Matérias primas utilizadas	18
3.5. Classificação da cerveja	26
<b>4. AS VARIÁVEIS DO PROCESSO</b>	<b>29</b>
4.1. Moagem	29
4.2. Brassagem	29
4.3. Filtração	30
4.4. Fervura do mosto	30
4.5. Resfriamento do mosto	30
4.6. Fermentação	31
4.7. Maturação	31
4.8. Clarificação / Envase	32
<b>5. CINÉTICA DE FERMENTAÇÃO</b>	<b>33</b>
5.1. Parâmetros de transformação	33
<b>6. MATERIAL E MÉTODOS</b>	<b>36</b>
6.1. Local da pesquisa	36
6.2. Matéria prima utilizada	36
6.3. Leveduras utilizadas	36
6.4. Processo de fabricação da cerveja	36
6.5. Métodos analíticos	40
<b>7. RESULTADOS E DISCUSSÕES</b>	<b>42</b>
7.2. Obtenção das curvas de calibração (Absorbância em 600nm vs. Biomassa)	43
7.3. Formulação dos gráficos da cinética de crescimento	45
7.4. Determinação do tempo de geração	46
7.5. Análise do comportamento de consumo dos açúcares redutores	47
7.6. Análise do °Brix	48

7.7. Análise do teor alcoólico .....	49
7.8. Análise do pH.....	49
8. CONCLUSÃO .....	51
9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	52

## RESUMO

A cerveja é uma bebida carbonatada de baixo teor alcoólico, preparada a partir da fermentação de um mosto contendo cereais maltados ou não maltados, lúpulo e água de boa qualidade. Também, pode-se utilizar adjuntos que irão substituir parcialmente o grão de cevada, como por exemplo: o milho, o arroz, e o trigo. Sendo o milho, o adjunto mais comumente utilizado nas indústrias cervejeiras brasileiras. Seu sabor é determinado pela matéria prima, pelo tipo de processo e pelo tipo de levedura utilizada, além dos compostos produzidos durante as etapas de fermentação e maturação, que exercem maior influência nas características sensoriais da cerveja (OLIVEIRA, 2011).

A cerveja é formada basicamente com a interação de quatro componentes: a água, o malte, o lúpulo e a levedura. O conteúdo mineral da água cervejeira é considerado a muito tempo como um dos principais fatores para o sabor da cerveja. O malte é o material que fornece o extrato ao mosto cervejeiro. É um dos principais ingredientes da cerveja, sendo produzido principalmente a partir dos grãos de cevada, que são umedecidos e colocados para germinar. O lúpulo é uma planta da família das *Cannabaceae*. Existem lúpulos com mais características aromáticas e outros com mais características de amargor. Segundo Alves (2014), as leveduras possuem a habilidade de metabolizar eficientemente os constituintes do mosto cervejeiro.

Visando a seleção de uma estirpe de levedura para a produção de um mosto cervejeiro, utilizando malte de cevada do tipo *pilsen*, neste trabalho, foi realizado um estudo cinético do crescimento de três leveduras comerciais, determinando-se para cada uma, as curvas de crescimento. Dessa forma, escolheu-se a estirpe que mais se adequava ao processo.

**Palavras-chave:** cinética de crescimento, cerveja, leveduras.

## ABSTRACT

It is a low carbonated beverage prepared from the fermentation of a brewing mash containing malted or unmalted cereals, hops and good quality water. Also, adjuncts that will partially replace the barley grain, such as corn, rice, and wheat, may be used. Being the corn, the adjunct most commonly used in Brazilian breweries. Its flavor is determined by the raw material, the type of process and the type of yeast used, as well as the compounds produced during the fermentation and maturation stages, which exert a greater influence on the beer sensorial characteristics (OLIVEIRA, 2011).

Beer is basically formed by the interaction of four components: water, malt, hops and yeast. The mineral content of brew water has long been considered as one of the main factors for the taste of beer. Malt is the material that provides the extract to the brew. It is one of the main ingredients of beer, being produced mainly from the grains of barley, which are moistened and placed to germinate. Hops is a plant of the Cannabinaceae family. There are hops with more aromatic characteristics and others with more characteristics of bitterness. According to Alves (2014), yeasts have the ability to efficiently metabolize the constituents of the brew.

In order to select a yeast strain for the production of a brewer's wort using pilsen barley malt, a kinetic study of the growth of three commercial yeasts was carried out, with growth curves being determined for each one. In this way, the strain that best suited the process was chosen.

**Key words:** growth kinetics, beer, yeast.

## 1. INTRODUÇÃO

A cerveja é uma das bebidas mais antigas do mundo. Historiadores relatam que a cerveja já era conhecida por muitos povos antigos, como os egípcios, sumérios, mesopotâmios, entre outros.

É uma bebida carbonatada de baixo teor alcoólico, preparada a partir da fermentação de um mosto contendo cereais maltados ou não maltados, lúpulo e água de boa qualidade. Também, pode-se utilizar adjuntos que irão substituir parcialmente o grão de cevada, como por exemplo: o milho, o arroz, e o trigo. Sendo o milho, o adjunto mais comumente utilizado nas indústrias cervejeiras brasileiras. Seu sabor é determinado pela matéria prima, pelo tipo de processo e pelo tipo de levedura utilizada, além dos compostos produzidos durante as etapas de fermentação e maturação, que exercem maior influência nas características sensoriais da cerveja (OLIVEIRA, 2011).

A fermentação da cerveja divide-se em dois processos distintos: as de alta fermentação, *ale*, e de baixa fermentação, *lager* (EVANGELISTA, 2012). Os processos de alta fermentação não necessitam de temperaturas muitas baixas. As leveduras que fazem parte deste tipo de fermentação conseguem trabalhar normalmente em uma faixa de temperatura que varia entre 15°C até 20°C, eventualmente podendo chegar até 24°C.

A *S. cerevisiae* é utilizada na produção de cervejas de alta fermentação, pois elas atuam na superfície do mosto por ser uma levedura de alta fermentação, entretanto não consome todo o açúcar contido no mosto, devido a este motivo, as cervejas do tipo *ale* possuem um sabor frutado, complexo e adocicado.

Visando a seleção de uma estirpe de levedura para a produção de um mosto cervejeiro, utilizando malte de cevada do tipo *pilsen*, neste trabalho, foi realizado um estudo cinético do crescimento de três leveduras comerciais, determinando-se para cada uma, as curvas de crescimento. Dessa forma, escolheu-se a estirpe que mais se adequava ao processo.

## **2. OBJETIVO**

### **2.1. Objetivo principal**

Analisar três leveduras comerciais e verificar qual obtém o melhor desempenho para produção de etanol e de biomassa.

### **2.2. Objetivos específicos**

- Obter três mostos cervejeiros obtidos a partir de três diferentes leveduras em condições iniciais análogas de volume, pH inicial e sólidos solúveis totais.
- Realizar análises de peso seco, biomassa, açúcar redutor, °Brix, pH, teor alcoólico final. Assim, obtendo a curva de crescimento para cada levedura utilizada e determinando a melhor estirpe para produção do mosto cervejeiro.

### **3. CONTEXTO TEÓRICO**

#### **3.1. Definição de cerveja**

É uma bebida carbonatada de baixo teor alcoólico, preparada a partir da fermentação de um mosto contendo cereais maltados ou não maltados, lúpulo e água de boa qualidade. Também, pode-se utilizar adjuntos que irão substituir parcialmente o grão de cevada, como por exemplo: o milho, o arroz, e o trigo. Sendo o milho, o adjunto mais comumente utilizado nas indústrias cervejeiras brasileiras. Seu sabor é determinado pela matéria prima, pelo tipo de processo e pelo tipo de levedura utilizada, além dos compostos produzidos durante as etapas de fermentação e maturação, que exercem maior influência nas características sensoriais da cerveja (OLIVEIRA, 2011).

A ciência e tecnologia que envolve a produção de cerveja cobre uma gama de disciplinas como a microbiologia, a bioquímica, a genética, a fisiologia microbiana e a química. Segundo Galvão (1997), é difícil identificar todos os constituintes responsáveis pelo gosto e aroma, ou seja, pelas características organolépticas da cerveja. Ao longo dos anos têm sido caracterizadas várias vias de síntese química e bioquímica que levam à formação da maioria dos compostos capazes de estimular os receptores nervosos que se encontram nas cavidades bucal e nasal dos humanos e provocar as sensações que normalmente temos quando bebemos uma cerveja. Cerca de 800 compostos diferentes são conhecidos na cerveja, cada um desses compostos confere qualidades distintas a cerveja (GALVÃO, 1997).

#### **3.2. História da cerveja**

A cerveja é uma das bebidas mais antigas do mundo. Segundo historiadores, civilizações antigas já produziam cerveja em suas habitações. Segundo o Portal São Francisco, os primeiros registros de fabricação de cerveja situam-se na antiga Suméria, na Mesopotâmia, cerca de 4000 a.C.

A mais antiga lei que regulamenta a produção e a venda de cerveja é a Estela de Hamurabi, que data de 1760 a.C. Nela, se condena à morte quem não respeita os critérios de produção de cerveja indicados na época. Compreendia inúmeras leis de comercialização, fabricação e consumo da cerveja, relacionando todos os direitos e deveres dos clientes (Kohler, J. & Peiser, F.E., 1890).



O conhecimento em fabricação de cerveja foi se disseminando por outras civilizações como os gregos, egípcios, romanos, babilônios, onde cada um tinha sua maneira de produzir e consumir esta bebida milenar. No Egito, a cerveja chegou um pouco depois encontrando referências de seu uso como oferendas aos mortos entre 5000 a 2800 a.C (AQUARONE, *et al.*, 1983). Segundo o escritor grego Ateneu de Náucrates (século III), teria sido inventada para ajudar a quem não tinha como pagar o vinho. Inscrições em hieróglifos e obras artísticas testemunham o gosto deste povo pelo *henket* ou *zythum*, apreciado por todas as camadas sociais. Até um dos faraós, Ramsés III (1 184-1 153 a.C.), passou a ser conhecido como "faraó-cervejeiro" após doar, aos sacerdotes do Templo de Amon, aproximadamente um milhão de litros de cerveja provenientes de suas cervejeiras.

Os egípcios fizeram com que a cerveja ficasse conhecida pelos outros povos orientais, fazendo com que ela chegasse na Europa e daí para o resto do mundo (SINDICERV, 2000).

Especula-se que a cerveja tenha sido descoberta acidentalmente, provavelmente surgindo da fermentação espontânea de algum cereal (APCV, 2012). Era muito diferente da cerveja dos dias de hoje, era turva e consumida com um pedaço de palha para filtrar os resíduos sólidos da bebida. Diversas substâncias eram utilizadas para aromatizar a cerveja: frutas, ervas, folhas de pinheiro e tâmaras.

Segundo APCV (2013), a produção de cerveja na Idade Média teve um grande impulso, por causa da influência dos mosteiros, que se tratava de um local onde a cerveja era tratada, melhorada, produzida e vendida. Nos dias atuais ainda é possível encontrar mosteiros na Europa que fabricam sua própria cerveja, e são consideradas uma das melhores cervejas do mundo, justamente pela técnica milenar que os mosteiros possuem.

### **3.3. Cerveja no Brasil**

As cervejas chegaram ao Brasil com a família real em 1808 e permanece até os dias atuais. Nessa época, a cerveja consumida no Brasil era importada diretamente da Europa, sendo privilégio dos nobres (AMORIM, 2015).

Com o avanço da tecnologia, em 1888, foi fundada na cidade do Rio de Janeiro a “Manufatura de Cerveja Brahma Villigier e Cia” e alguns anos depois, em 1891 na cidade de São Paulo, a “Companhia Antártica Paulista”. Essas duas empresas fundiram-se, originando a

maior produtora de cerveja do mercado brasileiro, o grupo Ambev (Venturini Filho e Cereda, 2001).

Atualmente grande parte das cervejas brasileiras, têm o grão de milho como um dos ingredientes principais. Este podendo substituir o grão de malte em até 40% (FIGUEIREDO, 2015).

De acordo com os dados da EUROMOTOR (2016), o Brasil ocupa o 17º Lugar entre os países que mais consomem cerveja mundialmente. A média dos brasileiros é de 82 litros por pessoa por ano.

### **3.4. Matérias primas utilizadas**

#### **3.4.1. A água**

O conteúdo mineral da água cervejeira é considerado a muito tempo como um dos principais fatores para o sabor da cerveja. A cerveja é constituída de 92 a 95% de água em peso, por isso as indústrias cervejeiras localizam-se em local onde tenha facilidade de acesso à água, e que essa água tenha uma boa qualidade (MARTINS, 1991; SILVA, 2005). A água é o suporte das combinações de todos os compostos químicos presentes na cerveja. As características físico-químicas da água influenciam propriedades da cerveja como o aroma, o gosto, a limpidez, a cor e a espuma (GALVÃO, 1997). As cervejarias mais famosas do tempo atual, conquistaram esse título devido á ótima qualidade da água que eles utilizavam na produção de suas cervejas, é o caso das cervejarias localizadas nas cidades europeias de Munique, Pilsen, Burton-on-Trent, Dortmund e Viena. Toda água encontrada na natureza contém sais dissolvidos em quantidade e qualidade diferenciados. Se a quantidade de sais for alta, essa água pode ter sabor característico e maior dureza (SILVA, 2005).

A água utilizada na produção de cerveja deve conter apenas os minerais necessários para o processo almejado, além de estar isento de matéria orgânica e contaminação microbiológica. Na Tabela 1, encontra-se os parâmetros que uma água de boa qualidade deve ter. Segundo Galvão (2011), a presença de alguns íons na água é relevante para as características da cerveja produzida. O sulfato,  $SO_4^{-2}$ , por exemplo contribui para um gosto seco e amargo, enquanto que o íon cloreto,  $Cl^-$ , quando em níveis altos, confere um gosto adocicado e mais encorpado. O excesso de sulfatos pode também influenciar a quantidade de compostos voláteis sulfurados produzidos durante a fermentação, como o  $H_2S$  e o  $SO_2$ .

A presença de nitratos ( $NO_3^-$ ) indica o estágio final da oxidação da matéria orgânica que contem nitrogênio, ainda podem ser reduzidos a nitritos, pela ação das leveduras, resultando em um sabor fenólico (GALVÃO, 1997).

Estudos mostram que íons derivados do ferro conferem à cerveja um gosto metálico, quando estão presentes em grande proporção. No entanto, os íons férrico e ferroso estão envolvidos na formação de compostos que conferem a cor à cerveja e alguns sais de ferro têm uma influência positiva na espuma, embora lhe possam por vezes conferir uma coloração amarronzada (GALVÃO, 1997).

A água pode também influenciar indiretamente as características da cerveja. O pH da água influencia no funcionamento das enzimas, e no grau de extração de vários compostos presentes no malte e no lúpulo, presentes na primeira etapa do processo produtivo, a produção do mosto. Segundo Jorge (2004), o pH ótimo da água deve estar entre 6,5-7,0. Se a água for alcalina, poderá dissolver grandes quantidades de matérias indesejáveis das cascas e do malte.

Tabela 1: Parâmetros da água de boa qualidade para produção de cerveja

Parâmetros	Unidade	Especificação
Sabor	-	insípida
Odor	-	inodora
pH	pH	6,5-8,0
Turbidez	NTU	menor que 0,4
Matéria orgânica	mg O <sub>2</sub> /L	0-0,8
Sólidos totais dissolvidos	mg/L	50-150
Dureza total	mg CaCO <sub>3</sub> /L	18-79
Sulfatos	mgSO <sub>4</sub> /L	1-30
Cloretos	mgCl/L	1-20
Nitratos	mgNO <sub>3</sub> /L	ausente
Cálcio	mgCA <sup>2+</sup> /L	5-22
Magnésio	mgMg <sup>2+</sup> /L	1-6
CO <sub>2</sub> livre	mgCO <sub>2</sub> /L	0,5-5

Fonte: LAZZARI *et. al.*, (2009)

### 3.4.2. O malte

O malte é o material que fornece o extrato ao mosto cervejeiro. É um dos principais ingredientes da cerveja, sendo produzido principalmente a partir dos grãos de cevada, que são umedecidos e colocados para germinar. Nessa fase, o amido presente no cereal maltado apresenta cadeias menores do que na cevada, tornando o produto mais flexível e mais solúvel, assim enzimas contidas no interior dos grãos são facilmente extraídas. A Tabela 2 a seguir compara as características do grão de cevada com o grão de malte.

Tabela 2: Comparação das características do grão de cevada com o grão de malte.

Características	Cevada	Malte
Massa do grão (mg)	32 a 36	29 a 33
Umidade (%)	10 a 14	4 a 6
Amido (%)	55 a 60	50 a 55
Açúcares (%)	0,5 a 1,0	8 a 10
Nitrogênio total (%)	1,8 a 2,3	1,8 a 2,3
Nitrogênio Solúvel (% do N total)	10 a 12	35 a 50
Poder diastásico (%)	50 a 60	100 a 250
Alfa-Amilase (20 Unidades)	Traços	30 a 60
Atividade Proteolítica	Traços	15 a 30

Fonte: Cereda (1985).

O malte comum é produzido da cevada, mas ele também pode ser feito a partir dos grãos de trigo, centeio, arroz ou milho. A princípio, qualquer cereal pode ser maltado, considerando, entre outros fatores, o poder diastásico, capacidade para hidrolisar o amido, e o seu valor econômico (AQUARONE E. *et al.*, 1983). A Figura 1 mostra o malte de cevada. A presença de amido, proteínas e enzimas, fazem do malte o composto ideal para a produção de cerveja. O malte mais utilizado é o tipo Pilsen. Entretanto, existem outros maltes especiais com diferentes características e cores: Munich, Caramelo, Torrado, etc. Variando as condições de maltagem (temperatura e umidade), também varia as propriedades da cerveja.

Figura 1: Malte de cevada



Fonte: Precioso, 2011.

O malte, cevada maltada é a principal fonte de substâncias químicas com atividade sensorial (gustativa ou olfativa), encontradas na cerveja, seja por via direta seja através das transformações que ocorrem durante a produção do mosto e a fermentação. No malte encontram-se uma variedade enorme de compostos que incluem ácidos graxos voláteis, furanos, aldeídos, cetonas, fenóis, proteínas, glicídios, compostos sulfurosos, melanoidinas, polipeptídios e polifenóis (GALVÃO, 1997).

Segundo Oliveira (2011), a cevada tem algumas características que a tornam mais adequada para a produção de cerveja do que outros cereais:

- Possui um alto teor de amido, o que a deixa atraente por ser mais barata do que os demais cereais.
- Quando maltada, possui um alto teor de enzimas que ajudam do processo de fabricação do mosto, com foco na queda das moléculas de amido em açúcares.
- Contém outras proteínas que proporcionam equilíbrio nos efeitos em relação a espuma, ao corpo e a sua estabilidade coloidal.
- Possui teor de lipídios relativamente baixo, o que é vantajoso para a estabilidade do sabor da bebida.

A fração glicídica é a predominante na constituição do malte. Durante a produção de mosto, as moléculas de amido presentes no malte são hidrolisadas enzimaticamente e transformadas em polissacarídeos, trissacarídeos, dissacarídeos e monossacarídeos. Os trissacarídeos são os únicos que permanecem até a fase final, sendo os principais responsáveis pela viscosidade e densidade da cerveja, propriedades que estão relacionadas com o "corpo" da

cerveja. Os glicídios de menor grau de polimerização são metabolizados pela levedura durante a fermentação em complexas vias de catabolismo e de anabolismo (GALVÃO, 1997).

As proteínas presentes no malte têm extrema importância, pela fonte de compostos azotados que constituem, essencial a boa performance fermentativa das leveduras. Os polipeptídios são um dos principais constituintes da espuma da cerveja, ao serem adsorvidos à superfície das bolhas de CO<sub>2</sub> que se libertam no copo (GALVÃO, 1997).

### 3.4.3. O lúpulo

O lúpulo é uma planta da família das *Cannabinaceae*. Existem lúpulos com mais características aromáticas e outros com mais características de amargor. O cervejeiro então deve fazer um *blend* desses diferentes tipos de lúpulos para formar o buquê da bebida (Revista Agrogeoambiental, 2009). A Figura 2, apresenta a flor de lúpulo cultivada em território europeu.

Figura 2: Flor de Lúpulo



Fonte: Brenson, C. 2010

Existem dois tipos importantes de lúpulo: o amargor e os aromáticos. Os lúpulos aromáticos são usados como lúpulos de acabamento ou condicionadores e são adicionados ao mosto normalmente nos minutos finais da fervura para conferir o aroma à cerveja (OLIVEIRA, 2011).

O lúpulo pode ser encontrado no comércio na forma de pó, extrato, flores prensadas e na forma de pellets. Os pellets são os mais comumente utilizados no Brasil, pois devido ao

clima desfavorável para produção do lúpulo em território nacional, não é possível encontrar a flor do lúpulo na região.

Segundo Galvão (1997), na fabricação da cerveja apenas as plantas femininas do Lúpulo são utilizadas, pois só elas que produzem as inflorescências, designadas por cones, utilizados na indústria cervejeira. A Tabela 3 exemplifica a composição do lúpulo utilizado na indústria cervejeira. É a partir destes cones que é extraída a fração resinosa onde se encontram os compostos que irão conferir o gosto amargo á cerveja, os  $\alpha$  ácidos.

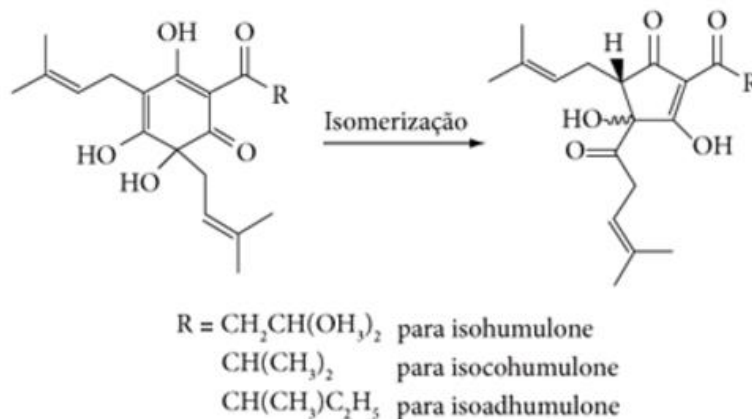
Tabela 3: Composição do lúpulo usado na indústria cervejeira

Componentes Químicos	Concentração (%)
Água	10
Resinas totais	15
Óleos essenciais	0,5
Taninos	4
Monossacarídeos	2
Pectina	2
Aminoácidos	0,1
Proteína bruta	15
Lipídeo e ceras	3
Cinzas	8
Celulose, lignina, etc.	40,4
Total	100

Fonte: EVANGELISTA (2012)

Os compostos amargos são as substancias mais significantes do lúpulo. Além de contribuir para a formação de uma boa espuma e proteger a cerveja contra contaminações microbiológicas. Este grupo de compostos sofre uma isomerização durante a fase final da produção do mosto, que os converte nos iso- $\alpha$ -ácidos, que são muito mais amargos que os correspondentes  $\alpha$  ácidos. A Figura 3 mostra a isomerização do  $\alpha$  ácido em iso- $\alpha$ -ácido.

Figura 3: Moléculas do  $\alpha$  Ácido e do Iso- $\alpha$ -ácido formado após isomerização.



Fonte: DA SILVA, 2008.

A natureza aromática dos lúpulos é devida aos óleos essenciais que constituem cerca de 0,5 a 1,5 % do peso dos cones. Já foram identificados mais de 200 compostos químicos com aroma, pertencentes às famílias dos compostos sulfurosos, dos terpenos, dos ésteres, dos álcoois, das cetonas e dos ácidos (GALVÃO, 1997).

#### 3.4.4. A levedura cervejeira

A levedura é um micro-organismo unicelular. Suas células tem uma forma oval a redonda com comprimento de 8 a 10 $\mu\text{m}$  e uma largura de 5 a 7 $\mu\text{m}$ . A célula de levedura tem um conteúdo de 75% de água. Sendo a parte seca constituída de 45-60% de proteínas, 25-35% de carboidratos, 4-7% de gordura e 6-9% de inorgânicos. São seres eucarióticos e possuem uma parede celular rígida.

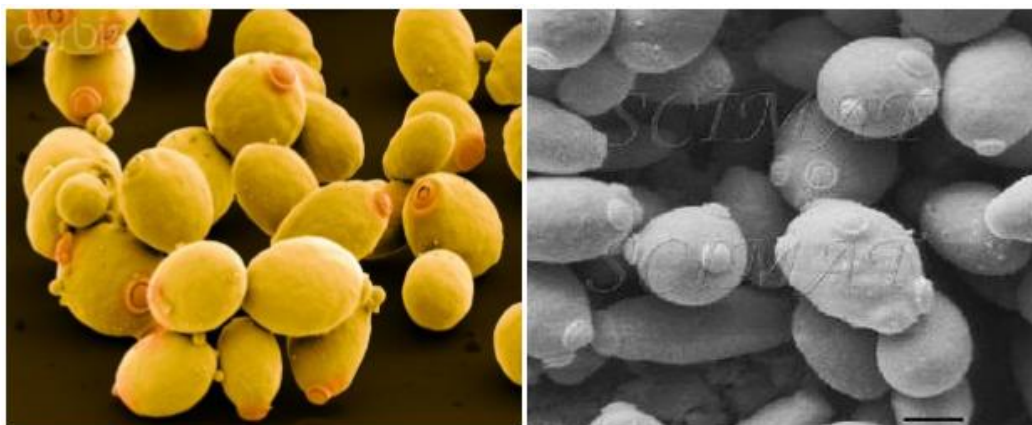
As leveduras se desenvolvem numa ampla faixa de temperatura, sendo o intervalo de crescimento ótimo situando-se entre 26 a 35°C. Em relação ao pH, os limites estão entre 4,5 e 5,5. Esses microrganismos também apresentam elevada resistência osmótica (SANTOS, 2008).

Segundo Alves (2014), as leveduras possuem a habilidade de metabolizar eficientemente os constituintes do mosto cervejeiro. As leveduras mais utilizadas na indústria cervejeira são as *Saccharomyces cerevisiae* e *Saccharomyces uvarum* (Figura 4). A *S. cerevisiae* é utilizada na produção de cervejas de alta fermentação, pois elas atuam na superfície do mosto por ser uma levedura de alta fermentação, entretanto não consome todo o açúcar contido no mosto, devido a este motivo, as cervejas do tipo *ale* possuem um sabor frutado, complexo e adocicado. A levedura *S. uvarum* é mais utilizada na produção de cervejas de baixa



fermentação, pois ela é capaz de flocular no final da fermentação, decantando no fundo do tanque fermentador (DA SILVA, 2015). Esta atua de maneira mais lenta provocando uma fermentação menos densa e mais eficaz, o que leva a formação de uma cerveja mais límpida e de sabor seco (VICENTE, 2003).

Figura 4: Levedura *S. cerevisiae* e *S. uvarum* respectivamente.



Fonte: CORBISIMAGES (2014); CERVEJASDOMUNDO (2014).

Embora o etanol seja o principal produto de excreção produzido pela levedura durante a fermentação do mosto, esse álcool primário tem pequeno impacto no sabor da cerveja (VENTURINI, 2010). Segundo Stewart (2000), as características de sabor e aroma de qualquer cerveja estão determinadas na maior parte pelo tipo de levedura utilizada. Sendo um organismo vivo, a levedura apresenta uma complexa rede de vias metabólicas responsáveis pela degradação de alguns compostos químicos e pela síntese de outros. Estirpes de levedura diferentes produzem quantidades diferentes dos vários compostos, quando fermentam um mosto com características idênticas. Também segundo Stewart (2000), os compostos produzidos pela levedura pertencem na sua maioria a um dos seguintes grupos químicos:

- **Álcoois:** são compostos extremamente aromáticos e tem um papel importante nas características organolépticas da cerveja.
- **Ésteres:** Estes compostos são responsáveis pelo *bouquet* de algumas cervejas. O éster presente em maior quantidade na cerveja é o acetato de etila que apresenta um aroma a solvente ou verniz. Outro éster com bastante influência no aroma da cerveja é o acetato de isoamilo. Este éster possui aroma característico da banana, que é detectado quando

os seus níveis ultrapassam o limiar de percepção olfativo. O tipo de levedura empregado é o principal fator de liberação desses compostos.

- Compostos sulfurados: O enxofre é um elemento extremamente importante na produção de cerveja por causa dos compostos que pode formar e que contribuem significativamente para as características sensoriais da bebida. Dentro deste grupo destacam-se o sulfureto de hidrogénio, o dimetilsulfureto, o dióxido de enxofre e os tióis. Embora quantidades pequenas destes compostos sejam aceitáveis ou até desejáveis em alguns tipos de cerveja, quando presentes em excesso, eles podem transmitir-lhe aromas desagradáveis (GALVÃO, 1997). Embora os compostos voláteis de enxofre possam já existir nos lúpulos e nos maltes, é durante a fermentação que a grande maioria se forma. Em condições normais de fermentação, o CO<sub>2</sub> formado que se liberta é suficiente para os arrastar para fora da cerveja, à medida que eles vão se formando.
- Compostos com grupos carbonila: A importância destes compostos reside no seu elevado potencial aromático e na influência que têm na estabilidade organoléptica da cerveja ao longo do seu tempo de vida. Quantidades excessivas de compostos carbonilados são características de cervejas oxidadas. O acetaldeído é o aldeído presente em maior quantidade na cerveja. Este composto forma-se durante a fermentação, e é um produto intermédio na via de síntese do etanol a partir dos sacarídeos do mosto. O acetaldeído formado pode ser reduzido a etanol ou oxidado a ácido acético. Parte do acetaldeído excretado pela levedura pode também ser, no final da fermentação, reabsorvido e reduzido enzimaticamente a etanol. Quando presente em níveis superiores ao limiar de percepção olfativa, o acetaldeído pode conferir à cerveja um aroma intenso de maçã.

### **3.5. Classificação da cerveja**

De acordo com a portaria N° 8 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), de 17 de janeiro de 2014, as cervejas podem ser classificadas seguindo os seguintes critérios:

### **3.5.1. Quanto ao extrato primitivo**

- Cerveja leve: definida como sendo a cerveja cujo extrato primitivo é maior ou igual a 5% em peso e menor que 10,5% em peso.
- Cerveja comum: definida como sendo a cerveja cujo extrato primitivo é maior ou igual a 10,5% em peso e menor que 12% em peso.
- Cerveja extra: definida como sendo a cerveja cujo extrato primitivo é maior ou igual a 12% em peso e menor que 14% em peso.
- Cerveja forte: definida como sendo a cerveja cujo extrato primitivo é maior que 14% em peso.

### **3.5.2. Quanto ao teor alcoólico**

- Cerveja sem álcool: quando a fração de álcool presente na cerveja for menor que 0,5% em volume, não sendo obrigatória a declaração no rótulo do conteúdo alcoólico.
- Cerveja com álcool: quando a fração de álcool presente na cerveja for superior a 0,5% em volume, devendo obrigatoriamente a declaração no rótulo do percentual alcoólico.

### **3.5.3. Quanto ao tipo de fermentação**

- Baixa fermentação: as leveduras atuam no fundo do balde/tina fermentadora.
- Alta fermentação: as leveduras atuam na superfície do mosto fermentador.

### **3.5.4. Quanto a coloração**

- Cerveja clara: a que tiver cor correspondente a menos que 20 unidades EBC (*European Brewery Convention*).
- Cerveja escura: a que tiver cor correspondente a 20 ou mais unidades EBC (*European Brewery Convention*).
- Cerveja colorida: a que tiver coloração diferente das definidas pela EBC (*European Brewery Convention*) devido a utilização de corantes naturais

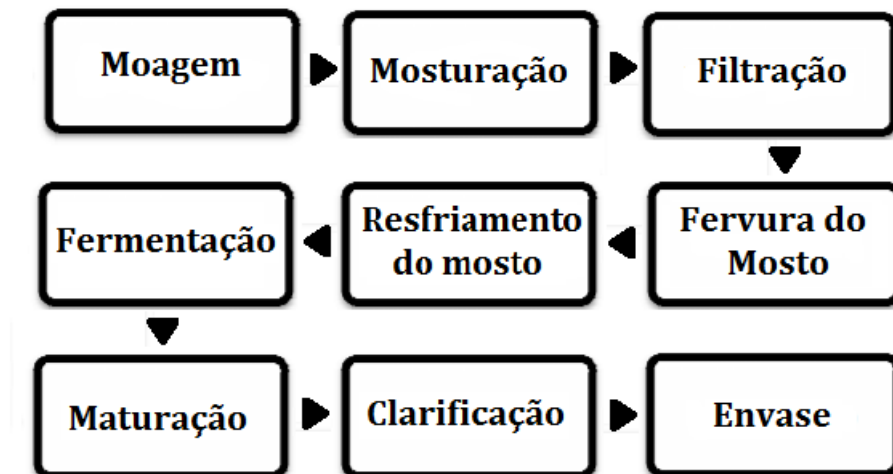
### **3.5.5. Quanto a proporção de malte de cevada**

- Cerveja de puro malte: a cerveja que possui 100% de malte de cevada, em peso, sobre o extrato primitivo, como fonte de açúcares.
- Cerveja: aquela que possui proporção de malte de cevada maior ou igual a 50% em peso, sobre o extrato primitivo, como fontes de açúcares.
- “Cerveja de ...”: seguida do nome do vegetal predominante, aquela que possui cevada de malte em proporções maiores que 20% e menor que 50% em peso, sobre o extrato primitivo, como fontes de açúcares.

#### 4. AS VARIÁVEIS DO PROCESSO

As etapas do processo que envolvem todo processo de produção de cerveja são esquematizadas na Figura 5.

Figura 5: Fluxograma dos processos básicos para o processo de produção de cerveja



Fonte: Própria

##### 4.1. Moagem

O malte é encaminhado para moinhos que irão romper a casca do malte para liberar o amido presente no interior dos grãos. A moagem também promove a diminuição do tamanho das moléculas de amido, facilitando a hidrólise do amido pelas enzimas.

##### 4.2. Brassagem

É durante a fase inicial do processo de brassagem que são extraídos do malte os sacarídeos, as proteínas e muitos outros compostos presentes no malte. Tanto os sacarídeos como as proteínas são então hidrolisados enzimaticamente, de uma forma controlada, tornando-os assimiláveis pela levedura. São várias as enzimas responsáveis por estas reações hidrolíticas (amilases, proteases, peptidases, etc.), cada um dos quais com temperatura e pH ótimos de atuação. O controle destes dois parâmetros é crucial durante o processo. Após a extração e hidrólise, as cascas dos grãos de malte são separadas do mosto, por uma filtração. O produto final da brassagem é denominado mosto (VENTURINI, 2005). O mosto deve ser uma solução completa e equilibrada de carboidratos fermentáveis, aminoácidos e minerais, que serve como

fonte de nutrientes para as leveduras durante a produção de etanol (VARNAN e SUTHERLAND, 1997).

#### 4.3. Filtração

As cascas ajudam na filtragem do mosto. Assim, é importante que a moagem não seja muito severa, para que não se tenha a casca do grão muito fina, que resultaria na redução da velocidade de filtragem e também que não seja muito grosseira, para que a hidrólise do amido seja facilitada (KUCK, 2008).

#### 4.4. Fervura do mosto

O mosto então é levado à ebulição para inativar todas as enzimas, esterilizar o mosto, precipitar algumas proteínas de elevada massa molecular que poderiam precipitar posteriormente na cerveja turvando-a. Também durante a ebulição que são extraídos e isomerizados os  $\alpha$  ácidos do lúpulo. Este processo também é muito dependente do pH, temperatura e tempo. A Tabela 4, mostra as composições médias dos principais componentes sólidos do mosto.

Tabela 4: Composições médias dos principais componentes sólidos do mosto.

Sólidos	Teor (%)
Carboidratos	90,8 a 92
Compostos nitrogenados (N*6,5)	3,8 a 6,0
Sais minerais	1,5 a 2,0
Ácidos livres (expressos em ácido láctico)	0,5 a 1,0
Substâncias fenólicas	0,1 a 0,2
Extratos e óleos de lúpulo	0,05 a 0,1
Lípidios	0,03 a 0,06

Fonte: MONTEIRO, 2001.

#### 4.5. Resfriamento do mosto

O mosto com lúpulo já fervido é centrifugado ou submetido a ação do *whirlpool* (vortex). Qualquer uma das duas operações citadas acima, tem o objetivo de decantar as partículas sólidas do lúpulo e as proteínas de alta densidade presentes no mosto fervido. Estes compostos que são decantados são denominados de *trub*. Logo depois o mosto é resfriado em trocadores de calor até atingir a temperatura desejada para a fermentação. Esta temperatura

final, dependerá do tipo de fermentação que o mosto produzido será submetido (alta ou baixa fermentação). Para cervejas do tipo *lager* (baixa fermentação), é desejável que o mosto seja resfriado à uma temperatura entre 7 e 15°C. para cervejas do tipo *ale* (alta fermentação) o mosto é comumente resfriado a temperaturas entre 18 e 22°C.

#### **4.6. Fermentação**

A fermentação é o processo de transformação de açúcares fermentativos do mosto em álcool, calor, gás carbônico, alguns ésteres, ácidos e álcoois superiores (OLIVEIRA DA SILVA, 2015). O processo de formação de álcool se dá dentro das células da levedura, que possuem dois tipos de metabolismo: o aeróbico que necessita de oxigênio, e o anaeróbico que ocorre na ausência de oxigênio. A principal via metabólica é a anaeróbica (MENDES, 2004).

As principais características organolépticas da cerveja derivam do metabolismo da levedura durante o processo fermentativo (GALVÃO, 1997). Consequentemente, a composição do mosto e os parâmetros que o afetam (pH e temperatura) alteram diretamente o desempenho fermentativo da levedura, assim, também afetam a qualidade da cerveja a ser produzida. Estes fatores estão inter-relacionados e torna-se difícil caracterizar a influência que cada um deles exerce isoladamente no perfil sensorial do produto final (GALVÃO, 1997).

A estirpe de levedura contribui significativamente para o carácter aromático da cerveja. Cada estirpe possui um comportamento único para um dado conjunto de condições de fermentação. O técnico cervejeiro tem que levar em consideração o perfil aromático produzido por cada estirpe (compostos sulfurosos, ésteres, álcoois, etc.) (GALVÃO, 1997). O controle adequado dos parâmetros da fermentação é o principal papel do cervejeiro, pois só assim se consegue obter um produto com características regulares.

#### **4.7. Maturação**

A Maturação da cerveja tem o papel de conferir as características sensoriais da bebida. No final da fermentação, existem na cerveja muitos sabores e aromas que devem ser eliminados ou corrigidos. O processo de maturação regulariza os níveis dos compostos que devem ser corrigidos ou eliminados, assim, produzindo um aroma e um sabor único. Ocorre uma atenuação no amargor do lúpulo e é estabelecido o sabor final da cerveja (VENTURINI, 2005). Também é na maturação que a liberação de CO<sub>2</sub> continua e a eliminação do excesso de alguns compostos voláteis prossegue.

#### **4.8. Clarificação / Envase**

Após a maturação é necessário que a cerveja seja filtrada para que se obtenha no final uma bebida com uma limpidez e um brilho cristalino (GALVÃO, 1997). Durante esta fase do processo ajustes de CO<sub>2</sub> podem ser feitos de modo a aumentar a concentração de gás carbônico na cerveja produzida. Na última fase de produção é feito o acondicionamento que pode ser feito em latas, garrafas ou barris. Mesmo depois de acondicionada, a cerveja continua a sofrer transformações químicas que podem levar à deterioração do aroma e gosto bem como o aparecimento de turvação (GALVÃO, 1997). A oxidação química é o principal precursor para o envelhecimento da bebida dentro dos recipientes utilizados. Os níveis de oxigênio dissolvido na cerveja embalada são determinantes para a sua estabilidade organoléptica e física. O oxigênio desencadeia a formação de compostos altamente reativos que levam não só ao aparecimento de aldeídos como à formação de complexos entre proteínas e polifenóis que precipitam e turvam a cerveja (GALVÃO, 1997). A cor do vidro das garrafas tem suma importância na proteção da bebida contra os efeitos da luz que, dependendo dos comprimentos de onda, desencadeiam algumas reações que levam deterioração da bebida.



## 5. CINÉTICA DE FERMENTAÇÃO

O estudo da cinética de fermentação consiste em analisar as evoluções das concentrações dos componentes do sistema de cultivo, em função do tempo fermentativo. Os componentes do meio de cultura são: o microrganismo (ou a biomassa, X), os produtos do metabolismo (P) e os nutrientes ou substratos (S). Uma vez que esses valores representam parte de um conjunto de dados necessários ao dimensionamento de uma instalação produtiva, fica evidente que sem o conhecimento da cinética, torna-se inviável a transposição de um experimento de laboratório para a escala industrial (MELNIKOV, 2002). Além desse aspecto, cabe mencionar que a cinética possibilita também uma comparação quantitativa entre as diferentes condições de cultivo (pH, temperatura, etc.), por intermédio de variáveis, como:  $X=X(t)$ ,  $P=P(t)$  e  $S=S(t)$ , (HISS, 2001).

A otimização do processo de fermentação da cerveja visando a máxima produtividade e uma qualidade constante do produto, requer a compreensão quantitativa das relações existentes entre os parâmetros do processo, a composição do mosto e a qualidade final da cerveja. Portanto, deve ser estabelecido um modelo cinético considerando as características principais do metabolismo da levedura (ENGASSER *et al.*, 1981).

### 5.1. Parâmetros de transformação

- Produtividade em biomassa:

$$P_X = \frac{X_M - X_0}{t_f} \quad (\text{Equação 1})$$

- Produtividade do produto:

$$P_P = \frac{P_M - P_0}{t_{fp}} \quad (\text{Equação 2})$$

- Velocidades de crescimento:

$$r_X = \frac{dX}{dt} \quad (\text{Equação 3})$$

- Velocidade de consumo de substrato:

$$r_S = \frac{-d_S}{d_t} \quad (\text{Equação 4})$$

- Velocidade de formação de produto:

$$r_P = \frac{d_P}{d_t} \quad (\text{Equação 5})$$

- Velocidade específica de crescimento:

$$\mu_X = \frac{1}{X} * \frac{d_X}{d_t} \quad (\text{Equação 6})$$

- Velocidade específica de consumo de substrato:

$$\mu_S = \frac{1}{X} * \left( \frac{-d_S}{d_t} \right) \quad (\text{Equação 7})$$

- Velocidade específica de formação de produto:

$$\mu_P = \frac{1}{X} * \frac{d_P}{d_t} \quad (\text{Equação 8})$$

- Fator de conversão de substrato em célula:

$$Y_{\frac{X}{S}} = \frac{X-X_0}{S_0-S} \quad (\text{Equação 9})$$

- Fator de conversão de produto em célula:

$$Y_{X/P} = \frac{X-X_0}{P-P_0} \quad (\text{Equação 10})$$

- Fator de conversão de substrato em produto:

$$Y_{P/S} = \frac{P-P_0}{S_0-S} \quad (\text{Equação 11})$$

- Fator de conversão de substrato em célula:

$$Y_{X/S} = \frac{X_M-X_0}{S_0} \quad (\text{Equação 12})$$

- Fator de conversão de produto em célula:

$$Y_{X/P} = \frac{X_M-X_0}{P_M-P_0} \quad (\text{Equação 13})$$

- Fator de conversão de substrato em produto:

$$Y_{P/S} = \frac{P_M-P_0}{S_0} \quad (\text{Equação 14})$$

Eliminando a grandeza  $X_0$ , pela combinação das equações (9) e (12), temos:

$$Y_{X/S} = \frac{X_M-X}{S} \quad (\text{Equação 15})$$

## **6. MATERIAL E MÉTODOS**

### **6.1. Local da pesquisa**

Todo o tratamento de insumos, etapas de processo para fabricação do mosto cervejeiro, caracterizações básicas e análises da cinética de fermentação foram realizadas em dois laboratórios do Centro de Tecnologia da Universidade Federal da Paraíba (UFPB). O Laboratório de Bioengenharia (Labio) e o Laboratório de Produtos Fermento-Destilados (LPFD). Todas as práticas foram elaboradas entre setembro de 2017 até novembro de 2017.

### **6.2. Matéria prima utilizada**

Para produção do mosto cervejeiro foi utilizado malte de cevada do tipo *pilsen* e água de abastecimento recolhida no próprio Laboratório de Bioengenharia.

### **6.3. Leveduras utilizadas**

Foram utilizados três tipos de levedura em três bateladas diferentes. A *Saccharomyces cerevisiae* para malte de cevada (S-33), a *Saccharomyces cerevisiae* para malte de trigo (T-58) e o fermento biológico seco Fermix, que se trata da *Saccharomyces cerevisiae* específica para produção de massas.

### **6.4. Processo de fabricação da cerveja**

#### **6.4.1. Moagem do malte**

O malte foi triturado em um moinho de discos, com o objetivo de quebrar totalmente a endosperma do grão de malte. Assim, todos os componentes contidos no interior do grão de malte passariam a estar expostos a atividade enzimática. Na Figura 6 pode-se observar o moinho utilizado no processo.

Figura 6: Moinho utilizado na moagem do malte



Fonte: Própria

#### **6.4.2. Pesagem do malte**

Foi pesado exatamente 130,7 g de malte triturado na balança semi-analítica. Em seguida, o malte foi misturado com 680 ml de água, para se obter um °Brix de 11,2. Todos os mostos produzidos foram configurados para ter um °Brix inicial entorno de 11,2. Todas as análises do °Brix foram feitas em refratômetro de ABBE, da NOVA Instruments.

#### **6.4.3. Mosturação**

O malte com água foi depositado dentro de um Becker de 1000ml envolto por uma malha de micro poros, e mosturado em banho maria com temperatura controlada de 68°C (temperatura ótima para atuação das enzimas) por um período de 50min. Logo após a temperatura foi aumentada para 78°C por 10min. A Figura 7 esquematiza a etapa de mosturação realizada em laboratório. Atingido o tempo de 1h, retirou-se uma alíquota do mosto para ser misturado e reagido com uma solução de iodo. Assim, foi possível determinar se o mosto cervejeiro ainda possuía moléculas de amido presentes ou não. Determinado que não havia amido presente, seguiu-se para a próxima etapa da produção da cerveja: a filtração.

Figura 7: Etapa da brassagem do mosto fabricado em laboratório



Fonte: Própria

#### 6.4.4. Filtração

Para facilitar a filtração do mosto, foi utilizado uma malha micro porosa ultrafina que foi acoplada ao Becker utilizado no cozimento do mosto. Esta malha foi suspensa para separar o mosto do bagaço de malte. O bagaço foi lavado com água a 78°C para retirar o açúcar remanescente dos grãos. Este método é conhecido como *Brew in a bag*, ou seja, o malte é colocado dentro da malha ultrafina, que por ser porosa, estará sempre em contato com a água, assim não interfere na mistura malte-água e facilita a filtração após a mosturação.

#### 6.4.5. Fervura

Separado o bagaço do malte do mosto cervejeiro, este foi exposto à fervura por um período de 60 min a uma temperatura de 100°C. Esta etapa é essencial para desativação total das enzimas presentes na mistura, coagular as proteínas pesadas/lúpulo e isomerização dos  $\alpha$  ácidos.

#### 6.4.6. Decantação e filtração

As partículas densas presentes no mosto foram decantadas forçadamente pela realização do *Whirlpool* por um período de aproximadamente 15min, assim, agilizando a decantação do *trub* presente no mosto. Posteriormente, o mosto foi filtrado e separado das grandes moléculas proteicas e partículas sólidas que foram decantadas. Para decantar as partículas pesadas ainda presentes no mosto e esterilizar o meio, utilizou-se da autoclave para atingir tal objetivo.

#### **6.4.7. Resfriamento**

O mosto foi resfriado em banho maria até atingir temperatura ambiente de 22°C. Em seguida, foi depositado igualmente em dois Erlemeyers de 500ml, cerca de 250ml de mosto para cada Erlemeyer.

#### **6.4.8. Tratamento das leveduras**

Foram utilizados três tipos de levedura em três bateladas distintas. Na primeira batelada utilizou-se a levedura *Saccharomyces cerevisiae* específica para malte de cevada (S-33), a segunda batelada foi composta pela *Saccharomyces cerevisiae* específica para malte de trigo (T-58) e por último o fermento biológico seco Fermix, que se trata da *Saccharomyces cerevisiae* específica para produção de massas.

##### **6.4.8.1. *Saccharomyces cerevisiae* da primeira batelada**

Para utilizar a *Saccharomyces cerevisiae* (S-33) da primeira batelada, foi preciso realizar o repique em meio sólido YMA (20 g/L de ágar, 3,0g/L de extrato de malte, 5,0g/L de bacto peptona, 3,0g/L de extrato de levedura e 10g/L de dextrose) de uma amostra de cerveja. Após o crescimento em placa por um período de 3 dias a temperatura constante de 18°C, o pré-inóculo foi preparado e depois de 24h o mesmo foi hidratado com 5ml de água e adicionado ao mosto.

##### **6.4.8.2. *Saccharomyces cerevisiae* da segunda batelada**

A levedura utilizada na segunda batelada (T-58) não precisou passar por repique. Logo, a levedura foi pesada para proporções de um mosto cervejeiro com 250ml de volume (aproximadamente 0,14375g de levedura), hidratada com 5ml de água e depositada no mosto cervejeiro.

##### **6.4.8.3. *Saccharomyces cerevisiae* da terceira batelada**

A levedura utilizada na terceira batelada (FERMIX) não precisou passar por repique. Logo, a levedura foi pesada para proporções de um mosto cervejeiro com 250ml de volume (aproximadamente 0,14375g de levedura), hidratada com 5ml de água e depositada no mosto cervejeiro.

## **6.5. Métodos analíticos**

### **6.5.1. Obtenção das curvas de calibração (Absorbância vs. Biomassa)**

No término da fermentação foram coletadas dez amostras do mosto final (após 120h). Cada amostra foi diluída com concentrações diferentes de água destilada, de modo que obtivesse diluição suficiente para leitura no espectrofotômetro. Desse modo, foi possível obter as curvas de calibração para formulação de uma equação que determina o crescimento da estirpe de levedura.

### **6.5.2. Determinação da taxa de crescimento das leveduras utilizadas**

A determinação da cinética de crescimento dos micro-organismos utilizados foi calculada por peso seco e pela biomassa contida em 2ml da solução. As amostras foram retiradas em intervalos de tempo pré-determinados (0h, 4h, 8h, 12h, 24h, 48h, 72h, 96h e 120h), colocadas em micro tubos de plástico já pesados e centrifugadas por 3min a 10000 rpm na centrífuga de marca Eppendorf – MiniSpin plus. Vale salientar que todas as análises foram feitas em duplicatas.

O sobrenadante foi retirado e depositado em outro recipiente plástico e congelado imediatamente, enquanto que a biomassa decantada foi depositada em uma estufa, com temperatura constante de 100°C por 24h, com o objetivo de alcançar uma secagem completa.

Passado as 24h, o micro tubo foi pesado em balança analítica e o peso obtido foi comparado com o peso do micro tubo seco inicial.

Após a pesagem de todos os micro tubos e em todos os pontos de coleta, gráficos foram plotados para um maior entendimento do comportamento do crescimento de cada levedura.

### **6.5.3. Açúcares redutores**

A obtenção da concentração dos açúcares redutores utilizou-se uma modificação do método do DNS, originalmente proposto por Miller, 1959. Esta metodologia consiste nos seguintes passos:

Primeiramente a amostra do mosto coletado foi depositada em um tubo de ensaio e foi diluída em água destilada. Misturou-se 0,5ml da amostra previamente diluída com 0,5ml de DNS. Colocou a mistura em banho maria a temperatura constante de 100°C por 5min. Retirou



a mistura aquecida e mergulhou a mesma em banho frio, para desativar a reação oxidante e alcançar a temperatura ambiente. Diluiu a mistura já resfriada com 4ml de água destilada. Utilizou o refratômetro da marca QUIMIS® configurado no comprimento de onda de 540nm, observou-se e anotou-se as absorbâncias obtidas em todos os pontos de coleta.

#### **6.5.4. pH inicial e final**

Os pH's de todos os mostos foram medidos no tempo inicial e final da fermentação. Foi utilizado o instrumento de medição pHmetro. O equipamento foi previamente calibrado com soluções tamponadas de pH 4,0 e 7,0.

#### **6.5.5. Teor alcoólico**

O teor alcoólico de cada mosto cervejeiro foi obtido no término da fermentação, ou seja, logo após as 120h. Foi utilizado o método do Ebuliômetro (CURVELO-GARCIA, 1980), que consiste em um aquecimento constante de 50ml da amostra, que é mensurado seguindo uma escala de grau alcoólico (°GL – Graus Gay-Lussac). Este equipamento se baseia na temperatura de ebulição da mistura fermentativa.

## 7. RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 7.1. Cálculo dos parâmetros de transformação mais significativos

#### 7.1.1. Produtividade em biomassa

$$P_x(\text{Mosto I}) = \frac{X_M - X_0}{t_f} = \frac{0,01131\text{g}}{\text{L. h}}$$

$$P_x(\text{Mosto II}) = \frac{X_M - X_0}{t_f} = \frac{0,02515\text{g}}{\text{L. h}}$$

$$P_x(\text{Mosto III}) = \frac{X_M - X_0}{t_f} = \frac{0,02953\text{g}}{\text{L. h}}$$

A levedura presente no Mosto III (Fermix) obteve a melhor produtividade em comparação as outras duas leveduras.

#### 7.1.2. Velocidades específicas de transformação

$$\mu_x(\text{MOSTO I, 12h}) = \frac{1}{X} * \frac{d_x}{d_t} = 0,058616h^{-1}$$

$$\mu_x(\text{MOSTO II, 12h}) = \frac{1}{X} * \frac{d_x}{d_t} = 0,1029h^{-1}$$

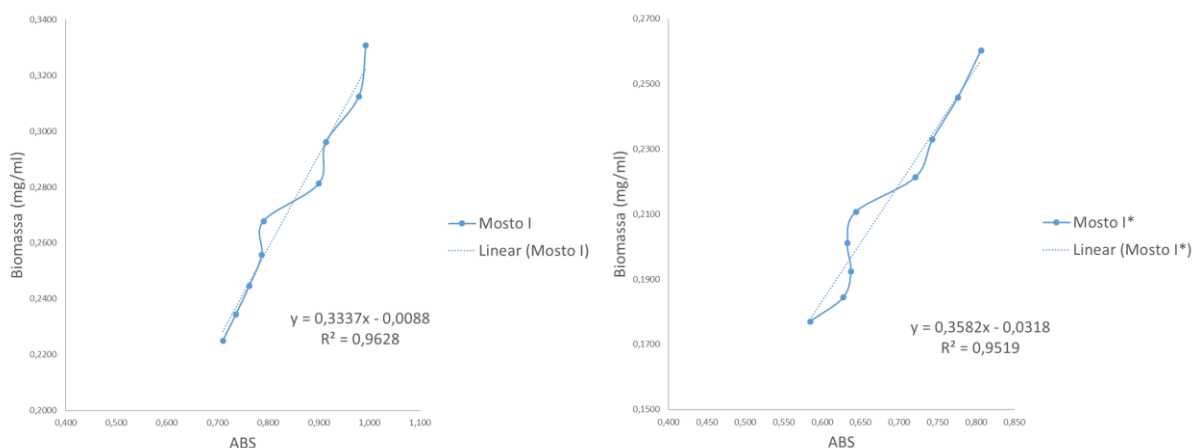
$$\mu_x(\text{MOSTO III, 12h}) = \frac{1}{X} * \frac{d_x}{d_t} = 0,2500h^{-1}$$

A levedura presente no Mosto III (Fermix) obteve a melhor velocidade específica no ponto de 12h em comparação as outras duas leveduras.

## 7.2. Obtenção das curvas de calibração (Absorbância em 600nm vs. Biomassa)

Os gráficos mostrados nas Figuras 8, 9 e 10 representam as curvas de crescimento encontradas para cada mosto produzido: Mosto I, representado pela levedura *Saccharomyces cerevisiae* específica para atuar em meio com malte de cevada (S-33). Mosto II composto pela levedura *Saccharomyces cerevisiae* modificada para trabalhar em meio com malte de trigo (T-58). Mosto III, constituído pela levedura *Saccharomyces cerevisiae*, específica para produzir massas (FERMIX).

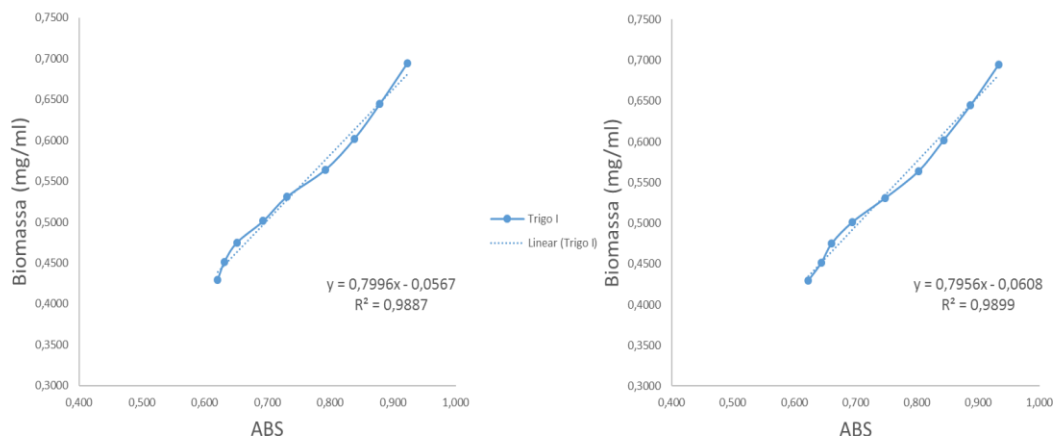
Figura 8: Curvas de calibração para o Mosto I



Fonte: Própria.

Nota-se que na medida que a absorvância aumenta (amostras menos diluídas), a biomassa também aumenta. Logo, esta curva apresenta uma uniformidade nos valores, se aproximando significativamente da linearidade. Devido a este comportamento a equação representada no gráfico da Figura 8 foi utilizada para determinação da biomassa presente no Mosto I.

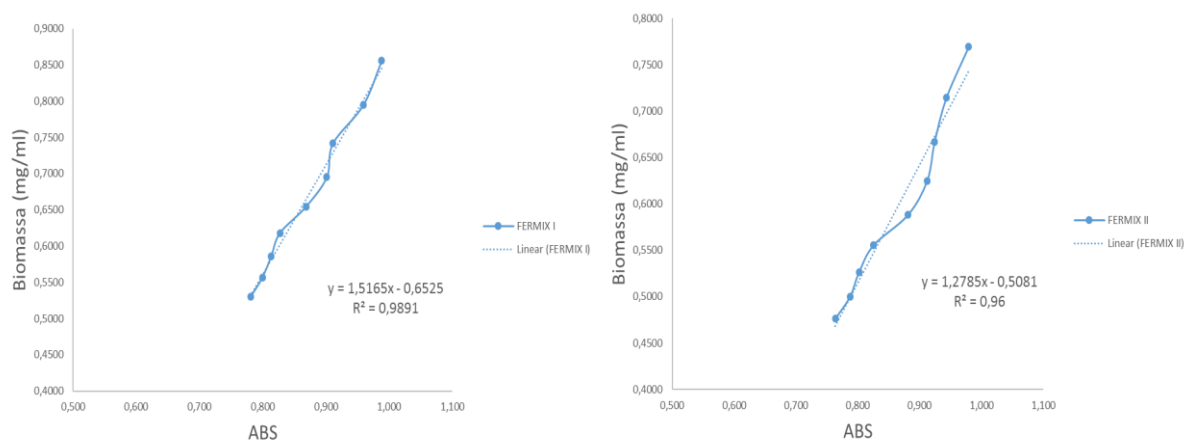
Figura 9: Melhor curva de calibração para o Mosto II



Fonte: Própria.

Nota-se que na medida que a absorbância aumenta (amostras menos diluídas), a biomassa também aumenta. Logo, esta curva apresenta uma uniformidade nos valores, se aproximando significativamente da linearidade. Devido a este comportamento a equação representada no gráfico da Figura 9 foi utilizada para determinação da biomassa presente no Mosto II.

Figura 10: Melhor curva de calibração para o Mosto III



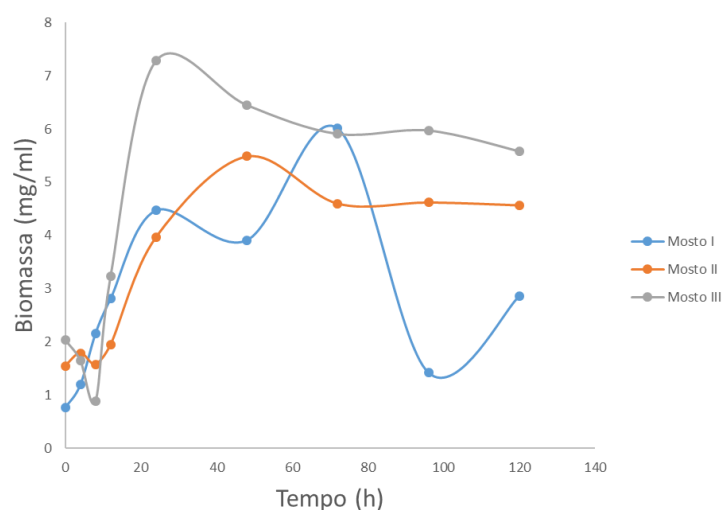
Fonte: Própria.

Nota-se que na medida que a absorbância aumenta (amostras menos diluídas), a biomassa também aumenta. Logo, esta curva apresenta uma uniformidade nos valores, se aproximando significativamente da linearidade. Devido a este comportamento a equação representada no gráfico da Figura 10 foi utilizada para determinação da biomassa presente no Mosto III.

### 7.3. Formulação dos gráficos da cinética de crescimento

Com a obtenção das equações pela linearização das curvas de calibração, foi determinado a biomassa presente em cada ponto coletado. E por fim, plotou-se os gráficos que representam o comportamento do crescimento das estirpes de levedura utilizadas durante o processo. O gráfico a seguir, representados na Figura 11, simula a cinética de crescimento de cada levedura trabalhada.

Figura 11: Curva da cinética de crescimento para o Mosto I



Fonte: Própria.

Pela Figura 11, nota-se que a curva de crescimento da levedura *S. cerevisiae* específica para malte de cevada (S-33), representada pela curva azul, possui um comportamento usual nas primeiras horas. Onde se observa a fase *log* que perdura até o sétimo ponto de coleta (72h). Porém, sofre uma queda brusca no ponto de 96h, que não corresponde ao comportamento normal de uma curva de crescimento leveduriano. Devido a este não conformidade, fica difícil determinar o período das fases estacionária e de declínio.

Existem duas hipóteses para este comportamento. A primeira hipótese é erro operacional ocasionado pela não homogeneidade adequada do mosto no tempo de 96h. A segunda hipótese é a floculação da levedura que pode ter se agregado as outras células da própria espécie, formando um floco de massa superior a massa do mosto e ter decantado para o fundo do Erlemeyer, assim, possibilitando um possível erro de leitura naquele ponto específico. De acordo com Nayyar et al. (2014), muitas forças estão envolvidas nas interações célula-célula, assim, provocando com facilidade o fenômeno da floculação.

O gráfico do comportamento do crescimento da levedura *S. cerevisiae* específica para malte de trigo (T-58), representada pela curva laranja, obteve um comportamento ideal. Observa-se a formação da fase *lag* que dura aproximadamente 5h, com uma leve alteração entre o segundo ponto coletado e o terceiro ponto. No quarto ponto da coleta (24h), começa a fase *log*, onde ocorre um crescimento exponencial da levedura presente no mosto. Esta fase perdura até o sexto ponto de coleta (48h), onde atinge seu valor máximo. É a partir de 48h de fermentação que se observa o surgimento de uma rápida fase estacionária que se transforma quase que instantaneamente na fase de declínio, onde a população microbiana entra na fase de morte celular, onde o número de células mortas ultrapassa o número de células novas, assim apresentando esse comportamento de declínio da reta.

O gráfico do comportamento do crescimento da levedura *S. cerevisiae* específica para produção de massas (FERMIX), representada pela curva cinza, obteve um comportamento ideal. Observa-se a formação da fase *lag* que dura aproximadamente 5h, com um pequeno declínio na biomassa entre o primeiro ponto coletado e o terceiro ponto. Entretanto, entre o terceiro e quarto ponto da coleta (24h), começa a fase *log*, onde ocorre um crescimento exponencial da levedura presente no mosto. Esta fase perdura até o quinto ponto de coleta (27h), onde atinge seu valor máximo. Entre o quinto e sexto ponto da coleta observa-se uma rápida fase estacionária, onde o número de células mortas se equivale ao número de células novas. Logo, em seguida é notório uma leve queda na concentração celular, indicando o início da fase de declínio, que se estabiliza logo em seguida.

#### 7.4. Determinação do tempo de geração

Tabela 5: Valores do tempo de geração de cada mosto

Tempo de Geração (horas)		
Mosto I	Mosto II	Mosto III
9,61	23,98	7,64

Fonte: Própria.

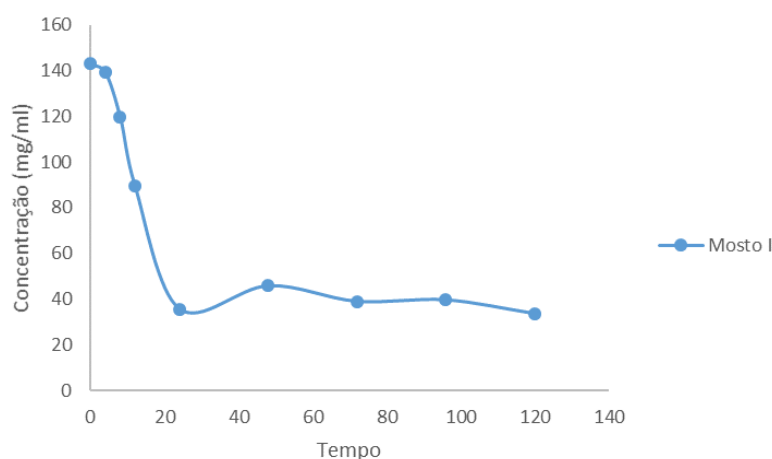
O tempo de geração é definido como o tempo necessário para que ocorra uma geração, ou seja, formação de duas células a partir de uma. Os valores de tempo de geração encontrados para cada mosto, nos mostra que o Mosto III, obteve o menor tempo de geração possível, justificando o alto crescimento da biomassa no gráfico da cinética de levedura mostrado

anteriormente. Também é possível afirmar que a levedura presente no Mosto II, apresentou o maior tempo de geração, que também justifica o lento crescimento do microrganismo, que pode ser observado no gráfico de crescimento da estirpe da levedura T-58.

### 7.5. Análise do comportamento de consumo dos açúcares redutores

As curvas padrão da análise de açúcar redutor via método DNS foram calculadas em laboratório. As curvas obtidas estão representadas nos gráficos contidos nas Figuras 12, 13 e 14.

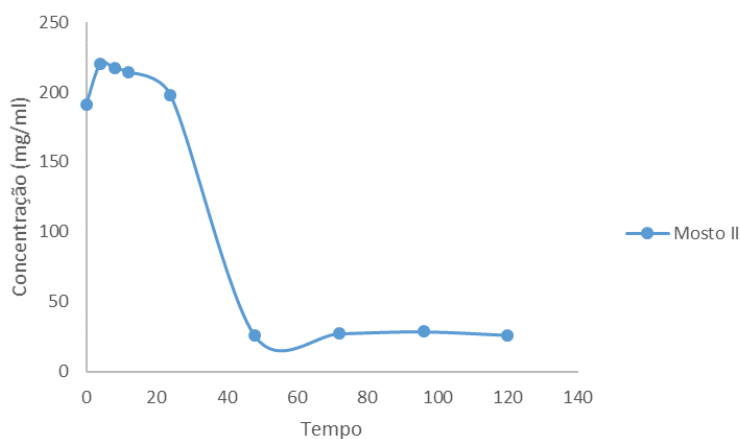
Figura 12: Gráfico do Tempo (horas) vs. Concentração de açúcar no Mosto I



Fonte: Própria

Pela Figura 12, nota-se que as moléculas de açúcar presentes no Mosto I foram consumidas até o tempo de 24h e permaneceu constante depois do quarto ponto.

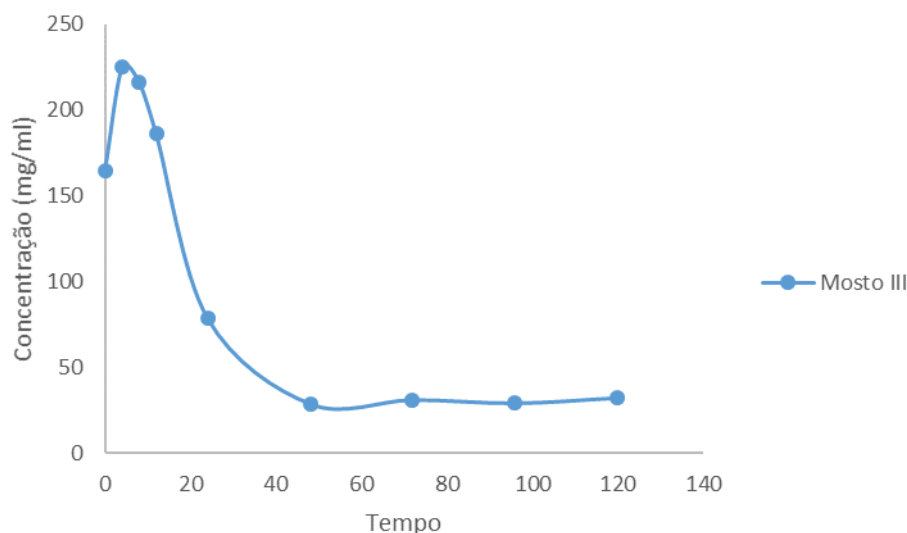
Figura 13: Gráfico do Tempo (horas) vs. Concentração de açúcar no Mosto II



Fonte: Própria

Pela Figura 13, observa-se que as leveduras consumiram os açúcares incessantemente até o tempo de 48h, e permaneceu constante até o tempo final.

Figura 14: Gráfico do Tempo (horas) vs. Concentração de açúcar no Mosto III



Fonte: Própria

Com comportamento semelhante ao Mosto II, as leveduras do Mosto III consumiram fortemente as moléculas de açúcar até o ponto de coleta das 48h, e permaneceu constante até o final do experimento. A Figura 14 exhibe o comportamento da curva de concentração de açúcares redutores ao longo do tempo.

## 7.6. Análise do °Brix

Os três mostos preparados e analisados em laboratório foram corrigidos para obtenção de um °Brix inicial de 11,2. Foi utilizado uma proporção total de aproximadamente 100g de malte para 500ml de água.

Ao fim do tempo da fermentação, período pré-estimado de 120h, o °Brix foi novamente calculado e se obteve os seguintes resultados: Mosto I: 4,2 °Brix, Mosto II: 6 °Brix, Mosto III: 5,7 °Brix.



Com os resultados de °Brix encontrados no término da operação, é possível observar que a levedura presente no Mosto I, consumiu mais açúcares redutores que as outras duas leveduras. Logo, pode-se afirmar que a levedura S-33 possui um maior rendimento do que as demais, para este meio específico.

### 7.7. Análise do teor alcoólico

O teor alcoólico obtido nos três mostos trabalhados foram semelhantes, 4.5% v/v. A obtenção desse valor nos mostra que todas as três leveduras utilizadas foram capazes de produzir a mesma quantidade de produto, entretanto, a levedura presente no Mosto I (S-33) precisou de menos substrato do que as leveduras do Mosto II e III, T-58 e Fermix, respectivamente. Logo, a levedura S-33 é mais eficiente que as demais.

### 7.8. Análise do pH

Apenas foi obtido o pH inicial e final dos mostos cervejeiros. A tabela 6 a seguir representa os valores calculados:

Tabela 6: Valores de pH inicial e final obtidos

	pH	
	Inicial (Média)	Final (Final)
Mosto I	4,76	3,84
Mosto II	4,83	3,55
Mosto III	4,73	3,82

Fonte: Própria.

De acordo com Hoffmann (2001), valores de pH menores que 4,5 é de fundamental importância, pois incapacita a proliferação de microrganismos patogênicos, como a bactéria *Clostridium botulinum*, que causa o botulismo. Além de ser um pH que está dentro da faixa de pH ótimo de fermentação da levedura. Logo os valores de pH encontrados correspondem com a literatura e reforça a premissa que o mosto não sofreu nenhuma contaminação.

De acordo com os gráficos da cinética de crescimento dos três mostos trabalhados, é possível afirmar que a levedura do Mosto III, obteve o maior e o mais rápido crescimento do

que as demais leveduras. Entretanto, a produção de álcool foi igual a produção alcoólica dos Mostos I e II, logo é correto afirmar que a levedura do Mosto III não se destacou pela eficiência de produto final e sim pela alta taxa de multiplicação da sua biomassa. O mesmo pode ser dito para a levedura presente nos Mosto III (T-58), que cresceu bem mais que a S-33.

Também analisando os gráficos de crescimento, é notório que a levedura do Mosto II levou mais tempo para atingir o seu crescimento máximo, do que as outras duas leveduras. Este acontecimento nos dá a informação que a levedura *S. cerevisiae* específica para malte de trigo (T-58), levou mais tempo para se adaptar ao meio. Esta afirmação também pode ser averiguada pelo valor obtido do tempo de geração. Que no caso do Mosto II, foi de 8.23h, enquanto que no mosto I e III foi 4.22h e 2.11h, respectivamente.

Averiguando o gráfico de açúcares redutores, é correto afirmar que a levedura presente no Mosto I (S-33), consumiu mais rápido as moléculas de açúcar presentes no mosto, enquanto que as leveduras T-58 e Fermix, levaram o dobro do tempo para consumir e estabilizar. Logo, é correto afirmar que a levedura do Mosto I (S-33), específica para malte de cevada se adaptou de forma mais eficaz ao meio.

Por fim, analisando todas as análises feitas e o comportamento de cada levedura utilizada. Conclui-se que a levedura presente no Mosto I obteve o melhor desempenho, devido a sua eficiência, pois, foi a que menos se multiplicou e que menos consumiu, e mesmo assim produziu a mesma quantidade de produto final do que as outras duas leveduras (T-58 e Fermix).

## **8. CONCLUSÃO**

Com os resultados obtidos foi possível comparar o comportamento das três estirpes de levedura.

As três leveduras utilizadas apresentaram curvas de crescimento semelhantes, porém a coleta de algumas amostras do Mosto I que continha a levedura S-33, apresentou erros de leitura.

Parâmetros como o pH e o °Brix permaneceram dentro das especificações da indústria nos três casos estudados.

A levedura S-33 foi a mais eficiente perante todos os dados apresentados.

## 9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALMEIDA E SILVA, J.B. Cerveja. In: **Tecnologia de Bebidas**. VENTURINI FILHO, W.G. ed. São Paulo: Edgard Blucher, p.347-380, 2005.
- AMORIM, B. **Cervejas artesanais no Brasil, de onde veio e para onde vai**. Disponível em: <https://papodehomem.com.br/cervejas-artesanais-no-brasil-de-onde-veio-e-para-onde-vai/>. Janeiro de 2015.
- ALVES, L. M. F. **Análise físico-química de cervejas tipo pilsen comercializadas em Campina Grande na Paraíba**. 2014.
- APCV. **A história da cerveja**. Disponível em: <http://www.apcv.pt/cervejacultura.php>. 2012.
- AQUARONE, EUGÊNIO, ET AL. **Biotecnologia Industrial** – São Paulo. Editora Bucher, 2001, volume 4.
- BORTOLI, Daiane A. da S.; SANTOS, Flávio dos; STOCCO, Nádia M.; ORELLI Jr., Alessandro; TOM, Ariel; NEME, Fernanda F.; NASCIMENTO, Daniela Defavari do. **Leveduras e produção de cerveja**. 2013.
- CEREDA, M.P. 1985. Cervejas. In: E. AQUARONE; U.A. LIMA; W. BORZANI, **Biotecnologia: Alimentos e bebidas produzidos por fermentação**. São Paulo, Edgard Blücher, vol. 5, p. 44-78.
- CURVELO, A. S.; GARCIA, P. B. **Química enológica – métodos analíticos**. Editora Publindústria. 823p. Edição 2015.
- DA SILVA, D. O. **Produção de cerveja artesanal tipo pilsen**. 2015.
- DA SILVA, P. H. A.; **Avaliação da intensidade de amargor e do seu princípio ativo em cervejas de diferentes características e marcas comerciais**. Viçosa – MG, BR. 2008.
- DE ARRUDA, I. N. Q.; PEREIRA, V. A.; GOULART, G. A. S. **Produção de cerveja com adição de polpa de murici**. Revista Eletrônica da Univar. Agosto de 2013.
- ENGASSER, J.M., MARC, I., MOLL, M., DUTEURTRE, B. **Kinetic Modelling of Beer Fermentation**. In: EUROPEAN BREWERY CONVENTION, Copenhagen. Proceedings of the 18th Congress, London, IRL PRESS, p.579-586, 1981.
- ESCOLA SUPERIOR AGRÁRIA DE COIMBRA. **Processos de fabrico da cerveja**. 2010.

EVANGELISTA, R. R. **Análise do processo de fabricação industrial de cerveja**. São Paulo: Fatec Araçatuba, 2012, 50p.

FIGUEIREDO, D. **Cerveja brasileira tem 45% de milho no lugar da cevada, aponta estudo**. Disponível em: <https://papodehomem.com.br/cervejas-artesanais-no-brasil-de-onde-veio-e-para-onde-vai/>. Setembro de 2015.

GALVÃO, M. P. **A química da cerveja**. 1997.

GONÇALVES, C.; RODRIGUEZ-JASSO, R. M.; GOMES, N.; TEIXEIRA, J. A.; BELO, I. **Adaptation of dinitrosalicylic acid method to microtiter plates**. Analytical Methods, London, v. 2, p. 2046-2048, 2010.

HOUGH, J.S. 1990. **Biotecnologia de la Cerveja y de la Malta**. Zaragoza, Editorial Acribia S.A., 194 p.

J. B. SEVERO Jr.; E. C. O. CORREIA; A. E. FERREIRA; S. S. ALMEIDA; J. C. C. SANTANA; R. R. SOUZA. **Estudo do efeito da levedura sobre a qualidade da cerveja de milho**. 2005.

JIN, Y.L.; SPERRS, R.A. **Flocculation of *Saccharomyces cerevisiae***. Food Res. Intern. Ed. 31. P. 421-44.

JORGE, E. P. M. **Processamento de cerveja sem álcool**. Goiás, UCG, 2004. 72p.

KOHLER, J. E.; PEISER, F. E. **Babylonischen Rechtsleben**. Leipzig, Alemanha. 4 vol. 1890

KUCK, Luiza Siede. **Cerveja: sabor e aroma**. 2008. 46f. Trabalho acadêmico – Graduação em Química de Alimentos. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

LAZZARI, A. M. *et. al.* **Aspectos clínicos e laboratoriais da mastite por inoculação intramamária de *Staphylococcus aureus* em vacas e búfalas**. 2014.

MARTINS, S.M. **Como Fabricar Cerveja**. São Paulo: Ícone Editora, 2ª ed., 77p., 1991.

MELNIKOV, G. M. D. **Estudo cinético do processo fermentativo de produção de cervejas em mostos concentrados**. 2002.

MILLER, G. L. **Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar**. *Anal. Chem.*, 1959, 31 (3), pp 426-428.

Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA. **Manual de métodos de análises de bebidas e vinagres**. 2010.

MONTEIRO, A. **Curso operador cervejeiro**. Companhia brasileira de bebidas. Goiânia. 2001. 155Pp.

NEGRULESCU, A.; PATRULEA, V.; MINCEA, M. M.; IONASCU, C.; VLAD-OROS, B. A.; OSTAFE, V. **Adapting the reducing sugars method with dinitrosalicylic acid to microtiter plates and microwave heating**. Journal of the Brazilian Chemical Society, São Paulo, v. 23, n. 12, p. 2176-2182, 2012. [http:// dx.doi.org/10.1590/S0103-50532013005000003](http://dx.doi.org/10.1590/S0103-50532013005000003).

OLIVEIRA, N. A. M. **Leveduras utilizadas no processo de fabricação da cerveja**. Minas Gerais, UFMG, 2011. 44p.

OLIVEIRA DA SILVA, Declieux. **Produção de cerveja artesanal tipo pilsen**. 2015.

PALMER, J. J. **How to brew**. Editora Brewers Publications, 2006, volume 3.

Queiroga Neto, V.; Bora, P.S.; Diniz, Z.N.; Cavaleiro, J.M.O.; Queiroga, K.F. 2009. **Dipteryx lacunifera seed oil: characterization and thermal stability**. Ciência e Agrotecnologia, 33: 1601-1607.

REBELLO, Flávia de Floriani Pozza. **Produção de cerveja**. Revista Agrogeo ambiental. Dezembro de 2009.

ROSA, N. A.; AFONSO, J. C. **A química da cerveja**. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.5935/0104-8899.20150030>. Junho de 2014.

SINDICERV. Disponível em: <http://www.sindicerv.com.br/dadossetoriais.php>. 2000.

SLEIMAN, M.; VENTURINI FILHO, W.G.; DUCATTI, C; NOJIMOTO, T. 2010. **Determinação do percentual de malte e adjuntos em cervejas comerciais brasileiras através de análise isotópica**. Ciência e agrotecnologia, 34(1):163-172.

STEWART, G.G. **A brewer's delight**. Chemistry and Industry, p.706-709, nov.2000.

VARNAM, A. H.; SUTHERLAND, J. P. Bebidas alcoólicas: I. Cerveza. In: **Bebidas: Tecnologia, Química y Microbiologia**. Zaragoza: Acribia, S.A., 1997. 487p.

VICENTE, M.A. **Seleção de cepas de Saccharomyces cerevisiae com maior capacidade de produção de agentes aromatizantes para utilização na fabricação de cachaça de alambique**. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto MG, 92p, 2003.

ZENEBON, O.; PASCUET, N. S.; TIGLEA, P. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. 2008.